Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin im Klinikum Steglitz
Direktor: Professor Dr. med. W. Brosig

Persorption und Harnsteinbildung

Eine experimentelle Studie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Dohrmann
aus Berlin

1976

Aus der Universitäts-Klinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin im Klinikum Steglitz
Direktor: Professor Dr. med. W. Brönig

Persorption und Hornsteinbildung

Eine experimentelle Studie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an dem Medizinischen Fachbereich
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Dohrmann
aus Berlin

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik
der Freien Universität Berlin im Klinikum Steglitz
Direktor: Professor Dr. med. W. Brosig

Persorption und Harnsteinbildung

Eine experimentelle Studie

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Dohrmann
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. W. Brosig

Korreferent: Professor Dr. med. G. Volkheimer

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 27. 11. 1976

A Einführung

a) Harnsteingenese

Zur Frage der formalen Steingenese in den Harnorganen werden im wesentlichen zwei Theorien angeführt (8):

- die Kristallisationstheorie
- die Matrixtheorie.

1. Die Kristallisationstheorie

Die Kristallisationstheorie wurde besonders von HELLER (30) (1860) verfochten, später von MORITZ (54), PFEIFFER (60), ASCHOFF (1, 2) und seinem Schüler KLEINSCHMIDT (36) und von KOHLER (41) u. NAKANO (55, 56) bestätigt und weiter entwickelt. Die Anhänger dieser Hypothese sahen in der Steinbildung ein reines Kristallisationsproblem. Durch Übersättigung des Urins mit Salzen fallen diese aus und Steine entstehen. Dabei wird den im Harn vorliegenden organischen Kolloiden kein aktiver Anteil zugesprochen, sondern die Matrix entsteht durch Eiweißstoffe des Harns, die durch auskristallisierende Salze eingeschlossen werden. Das Gefüge gleicht dann einer Kittsubstanz (MORITZ (54), PFEIFFER (60)). v. PHILIPSBORN (63, 66, 67) berichtete, daß zwischen Harnsediment und Steinbildung kein gravierender Unterschied bestehe. Nach seiner Theorie fallen die Steinbildner nicht diffus aus, sondern sammeln sich um einen Kristallisationspunkt. Dabei können Fremdkörper oder ein einzelner Kristall als Kristallisationspunkt wirken, an dem durch Ausfallen von Harnsalzen sich die Steinbildung vollzieht.

2. Die Matrixtheorie

Das Vorhandensein eines Bildungszentrums wird hier ebenfalls, wie bei der Kristallisationstheorie, zur Kernfrage (12, 9). Für die Befürworter dieser Hypothese ist die Kristallisation der sekundäre Vorgang, vielmehr wird das Ausfallen der Steinmatrix aus organischen Substanzen als der primäre, der auslösende Vorgang angesehen. MECKEL v. HEMSBACH (52) betonte die Notwendigkeit organischen Materials für die Harnsteingenese. Der Harn stellt eine Lösung dar, in dem die Kristalloide durch die Harnkolloide in Lösung gehalten werden (LICHTWITZ (45)). Diese Kolloide bilden einen Schutzfilm um die Kristalle und verhindern, daß sie ausfallen. Auch diese Theorie setzt ein Bildungszentrum zur Steingenese voraus (LICHTWITZ (46, 47, 48)). Der Nucleus kann verschiedener Genese sein: amorphes Sediment, agglutinierte Bakterien, Zelldetritus, Fremdkörper, Fibrin und Blutkoagel. Durch ihre hohe Oberflächenspannung geben diese Anlaß zum Ausfallen und Absetzen der Harnkolloide. Für SNAPPER und Mitarbeiter (73) ist ein Mangel an Schutzkolloiden für die Steinbildung ausschlaggebend. Nach BUTT (14, 15) führt eine abnorme Vermehrung der Kristalloide zu einem relativen Mangel an Schutzkolloiden. Dieser Mangel führt dann zu einem aktiv werden der Steinkeime und das wiederum zur Bildung von Steinkernen. Die Schutzkolloide übernehmen eine Funktion als Lösungsvermittler. Bei der chemischen Zusammensetzung der Steinmatrix handelt es sich um Mukoproteide, die aus Proteinen und Mukopolysacchariden

zusammengesetzt sind. KOCH et al. (37, 38, 39, 40) nehmen an, daß die Matrix aus Kolloidkörperchen im Kapselraum des Glomerulus bei Steinbildnern, aber auch bei Gesunden nachzuweisen ist. Bei diesen Kolloidkörperchen handelt es sich um organische Kristalloidkolloide, die eine homogene, bis 1 µm große kugelige Form aufweisen. Beobachtungen von KOCH und Mitarbeitern (37, 38, 39, 40) zeigten, daß diese Kolloidkörperchen sich zusammenlagern und zu einem Wachstumskern verschmelzen. Ein vermehrtes Auftreten dieser Kolloidkörperchen wurde nach Gabe von Sulfothiazol, Calciumcarbonat und Calciumoxalat beobachtet (KOCH et al. (37, 38, 39, 40)).
Die Kristallisationsvorgänge an den Konkrementen sind durch eine radiäre Streifung zu erkennen. Diese Gebilde werden Sphärolithen genannt, die durch weiteres mantelförmiges Anlagern von Kolloidkörperchen zu Mikrolithen vergrößert werden. Mehrere Mikrolithen und weiterer Anbau von Kolloidkörperchen führen zu Mikrokonkrementen und bei längerer Versuchsdauer zu einem makroskopisch sichtbaren Stein.

b) Persorption

Unter Persorption versteht man einen Durchtritt fester Partikel aus dem Darmlumen zwischen den Epithelien hindurch in das Stroma der Darmschleimhaut. HERBST (31) wies als erster 1844 Stärkekörner in der Lymphe des Ductus tho-

racicus einer Hündin nach, die er drei Stunden zuvor verfüttert hatte. OESTERLEN (57) (1846) mengte dem Futter pulverisierte Holzkohle bei und fand diese Partikel in Blut, Leber, Lunge, Milz und Nieren wieder. EBERHARD (22) beschrieb 1851 einen Versuch, bei dem verfütterte Schwefelkörner im Chylus der Mesenterialgefäße, im Ductus thoracicus und im Mesenterial- und Pfortaderblut gefunden wurden. DONDERS (21) verabreichte im selben Jahr Kaninchen und Fröschen Holzkohlepartikel, die er dann später im Blut nachweisen konnte. MARFELS u. MOLESCHOTT (51) (1854) instillierten Fröschen Pigmentkörner in den Magen. Später wurden diese Partikel im Blut wiedergefunden. HIRSCH (33, 34) (1906) verfütterte Kartoffelstärke bei Hunden. Sie konnte beweisen, daß diese Stärkekörner unverändert durch die Nieren ausgeschieden wurden. VERZAR (78) (1911) reproduzierte diese Versuche unter strengen Kautelen bei Hunden und Menschen. Durch stärkefreie Nahrung vor Versuchsbeginn, machte er jede Verunreinigung unmöglich. In allen Versuchen konnten die Ergebnisse von HIRSCH (33, 34) bestätigt werden. In weiteren Experimenten gelang VOLKHEIMER et al. (79, 80, 81, 82, 85, 86, 89, 90, 92, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102) der Nachweis des Persorptionsvorganges an Menschen und verschiedenen Tieren mit unterschiedlichen Modellkörpern. Dieser Vorgang spielt sich während des normalen Verdauungsprozesses ab (VOLKHEIMER et al. (100, 102, 103, 104, 105, 106, 107)).

Größenvergleiche zwischen persorbierten Partikeln und den Darmschleimhautepithelien sowie histologische Untersuchungen lassen erkennen, daß ein parazellulärer Durchtritt möglich ist. Dieser vollzieht sich bevorzugt im Bereich von Epitheldefekten (VOLKHEIMER et al. (80, 83, 84, 90, 92, 94, 100, 102, 103, 104, 106)). VOLKHEIMER et al. (93) demonstrierten mit Hundeversuchen, daß verfütterte Hefezellen mit dem Harn ausgeschieden wurden und noch sproßfähig waren. 1963 applizierte VOLKHEIMER (84) Polyvinylchlorid-Kügelchen in den Magen von Hunden und fand diese im Ductus thoracicus und in der Blutbahn wieder. Verfütterte Modellkörper konnten im Liquor, im Urin, in Ascites, Galle, Blut und Chylus sowie in Gewebsschnitten von Leber, Niere und Lunge identifiziert werden (79, 80, 83, 86, 87). Auch ihr diaplazentarer Übertritt (88) und ihre Ausscheidung in der Milch (91)wurden beschrieben. SENGBUSCH u. TIMMERMANN (72) wiesen eine gesteigerte Ausscheidung von Calciumoxalat, Mono- und Dihydratkristallen im Urin nach vermehrter peroraler Zufuhr oxalathaltiger Nahrungsmittel nach. 1970 verwandten BIRKHOLZ u. RIEDEL (7) als persorbierbare Modellkörper mit Auramin^{R} färbbares Polyvinylchlorid-Granulat, das in Niere und Urin leicht zu identifizieren ist und lösten simultan Steinkrisen mit intraperitoneal injiziertem Eleudron^{R} aus. Sie wiesen im Nierenbecken Konkremente bis zu Reiskorngröße nach. Mikroskopisch konnte im Steinzentrum kristallähnlich angeordnetes PVC-Granulat mit einer perifokal abgelager-

ten Masse festgestellt werden. LÖHE und Mitarbeiter (49) sahen 1971 eine eindeutig vermehrte Calciumoxalat-Dihydratausscheidung in den Harnsedimenten von Ratten nach Instillation von Calciumoxalat Dihydratkristallen in den Magen und die oberste Dünndarmschlinge. Daraus schlossen sie, daß ein Teil der Kristalle unverändert persorbiert und mit dem Urin ausgeschieden wird.

B Problemstellung

Unsere Untersuchungen sollten sich mit dem Problem beschäftigen, ob persorbierte Teilchen als Kristallisationskerne in der Niere in Frage kommen und somit eine Harnsteinbildung auslösen können. Korpuskuläre Elemente, die mit der Nahrung aufgenommen, im Magen-Darm-Trakt persorbiert und mit dem Urin ausgeschieden werden, waren bis jetzt für die Steingenese nicht in Betracht gezogen worden. Als persorbierbare Modellkörper mußten wir Kristalle verwenden, die einen Durchmesser von 10 bis 100 µm hatten, in Nieren und Harn gut zu identifizieren waren und im Stoffwechsel nicht verändert werden.

C Material und Methode

a) Ausgangsmaterialien

1. Bleisulfidkristalle

Dieses Material wurde in einer Größe von 10 - 100 µm hergestellt. Es erfüllte unsere Versuchsbedingungen, da es

leicht zu identifizieren war und durch den Stoffwechsel nicht angegriffen wird.

Abb. 1: Bleisulfidkristalle
250 x

2. Zirkonsilikatkristalle

Das Zirkonsilikat ($ZrSiO_4$) wurde in einer gereinigten und gesiebten Form mit einer Korngröße von 10 - 40 µm verwendet. Mit diesem Material wurde gearbeitet, weil in Einzelfällen beim Menschen (JOEKES et al., HERMANN et al., LAGERGREN (35, 32, 43) und auch bei Tieren (CONNEL, Mc CULAGH (16, 17))silikathaltige Steine nachgewiesen werden konnten. Das Zirkonsilikat stellt ebenfalls einen Modellkörper dar, der die oben genannten Voraussetzungen erfüllt. Zur leichteren Identifizierung der Kristalle verwendeten wir, wegen des doppelbrechenden Effekts, ein Polarisationsmikroskop.

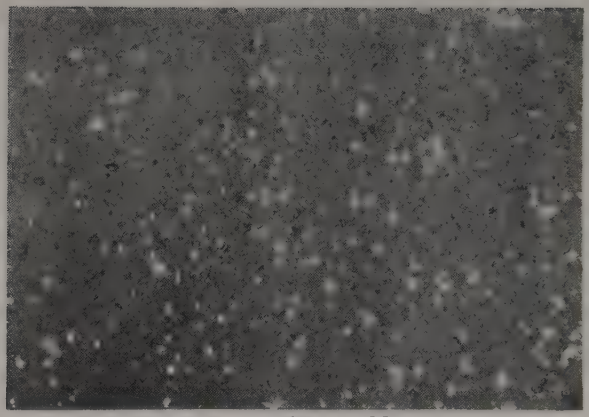

Abb. 2: Zirkonsilikatkristalle
250 x

3. Herstellung von Calciumoxalatkristallen

I. Problemstellung

Für unsere Untersuchungen benötigten wir Calciumoxalatkristalle, die leicht zu identifizieren sind. Calciumoxalat kommt in verschiedenen Hydratstufen vor. So unterscheidet man heute (v. PHILIPSBORN (61, 62, 64, 65)) ein monoklin kristallisierendes Calciumoxalat-Monohydrat Ca C_2O_4-H_2O (Whewellit) und ein tetragonal kristallisierendes Calciumoxalat Ca C_2C_4-2-2,5 H_2O (Weddellit). Die Calciumoxalat-Monohydratkristalle erscheinen als ellipsoide und sanduhrförmige Faseraggregate. Das Weddellit, also Calciumoxalat-Dihydrat, ist identisch mit dem vom Harnsediment her bekannten "briefumschlagförmigen" Calciumoxalat.

Für unsere Zwecke eigneten sich zur leichten Wiedererkennung die tetragonalen "Briefkuvertkristalle " am besten.

II. Herstellung

Im Schrifttum wird für Weddellit als Kristallwasser 3 Mol H_2O (FREY 1924 (23)) und in der neuen amerikanischen Literatur (E. L. PRIEN u. FRONDEL (29)) 2 Mol H_2O angegeben. v. PHILIPSBORN (61) gelang 1951 die Reindarstellung des Weddellits und damit der Beweis, daß es sich um ein Dihydrat handelt, das bis etwa 0,5 Mol Wasser aufnehmen und wieder abgeben kann. ALBERT FREY (23) beschrieb 1924 eine Methode zur Herstellung von Trihydrat, das aus einer 1/100 - 1/500 normalen Lösung ausfallen sollte. Dieses Verfahren ließ sich auch bei uns reproduzieren, ergab aber nur sehr geringe Mengen an Trihydrat, die zusätzlich noch mit Monohydrat vermischt waren. SOUCHAY u. LENSSEN (74) beschrieben eine Reaktion, bei der reines Trihydrat gewonnen werden kann. Sie propagierten 1856 mehrere Methoden, mit denen sie Kalkoxalate in Kristallform herstellen konnten. Ein Weg bestand darin, das Calciumoxalat bis nahe zur Sättigung in siedende, stark rauchende Salzsäure (von 1,20 spez. Gewicht) einzutragen. Danach erhält man in der langsam erkaltenden Lösung tetragonale Säulen. Jedoch erwies sich uns diese Methode als unbefriedigend. Schon bei FREY (23) kristallisierten ebenfalls tafelförmige Gebilde bei zu starker Sättigung der Säure mit Calciumoxalat aus. Wei-

ter beobachteten SOUCHAY u. LENSSEN (74) die Bildung von Calciumoxalatkristallen durch Gabe von Chlorcalcium zu kalter gesättigter Oxalsäurelösung. Vermischt man warme Salpetersäure von 1,22 spez. Gewicht mit oxalsaurem Kalk und läßt diese über Tage stehen, so bilden sich ebenfalls Weddellit und Whewellit. Beide Versuche bringen jedoch in der Reproduktion nicht die gewünschte Menge an "Briefkuvertkristallen" und zeigen einen großen Verunreinigungswert. v. PHILIPSBORN (62) beschrieb 1952 einen neuen Reaktionsaufbau zur Weddellit- und Whewellitherstellung. Hierzu werden 500 ccm filtrierter Harn mit 25 ccm n/20 Ammoniumoxalatlösung versetzt. Es fällt dann zunächst bei Zimmertemperatur nur Weddellit in flachen tetragonalen Dipyramiden aus, anschließend nur Whewellit in sphärolithischen Gebilden. Wird dieser Versuch bei 80° C durchgeführt, so fällt nur Whewellit aus.

Die Ausbeute an Weddellit bei diesem Verfahren war für unsere Zwecke zu gering, so daß wir das von PHILIPSBORN (62) beschriebene Vefahren modifizierten. In einer ähnlichen Versuchsanordnung versetzten wir ebenfalls 500 ccm filtrierten Harn unter Umrühren mit 25 ccm n/20 Ammoniumoxalatlösung. Unter Zugabe von 0,5 g CaCl zur Analyse erhielten wir eine reine Ausfällung von "Briefkuvertkristallen".

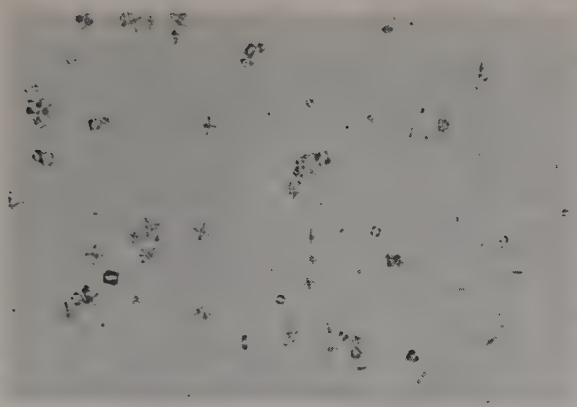

Abb. 3: Tetragonale Calciumoxalatkristalle (Weddellit) 300 x

Wurde der Lösung weniger CaCl hinzugefügt, so fielen nur geringen Mengen an Weddellit aus. Bei der Applikation von mehr als 0,5 g CaCl auf 500 ccm filtriertem Harn entstand ein pulvriger Niederschlag von Calciumoxalat.

Die radioaktiv markieten Ca^{45}-Oxalatkristalle wurden uns vom Institut für Kernforschung (Hahn-Meitner-Institut, Berlin) zur Verfügung gestellt.

b) Oxalatsteinbildung durch Äthylen-Glycol-Applikation

1962 gelang es HAMMARSTEN, GERHOFF u. ANDRUS (27, 25) durch Applikation von Äthylen-Glycol eine Calciumoxalatsteinbildung auszulösen. TANRET (75) et al. stellten nach Äthylen-Glycol-Gabe fest, daß männliche Ratten wesentlich häufiger mit einer Steinbildung reagierten als weibliche. Diese Resultate wurden von VAILLE et al. (76) bestätigt. Es gelang, die Calciumoxalatsteinbildung durch zusätzliche Gabe von ansäuernden Mitteln zu verstärken (VERMEULEN (77)). LYON, BORDEN u. VERMEULEN (5O) befaßten sich 1966 mit Experimenten, bei denen sie Ratten Äthylen-Glycol verabreichten und in histologischen Untersuchungen Oxalatsteine in den Nieren nachweisen konnten. Äthylen-Glycol ist jedoch sehr toxisch und führt zu Schädigungen des Zentralnervensystems, Verwirrung und Krämpfen, Koma und zur Urämie (PONS et al., MILLES, LEVY, FRIEDMANN et al., HANZLIK et al., BERMANN et al. (68, 53, 44, 24, 28, 6)). Bei Gabe von 1 % Äthylen-Glycol und 1 % Ammoniumchlorid besteht die günstigste Relation zwischen guter Steinbildung und möglichst geringer toxischer Schädigung (LYON, BORDEN, VERMEULEN (5)). Die Kristallablagerung wird hauptsächlich in den Papillen und im Parenchym der Nieren gefunden. Um die Genese der Harnsteinbildung weiter zu verfolgen, ist Äthylen-Glycol besonders gut geeignet.

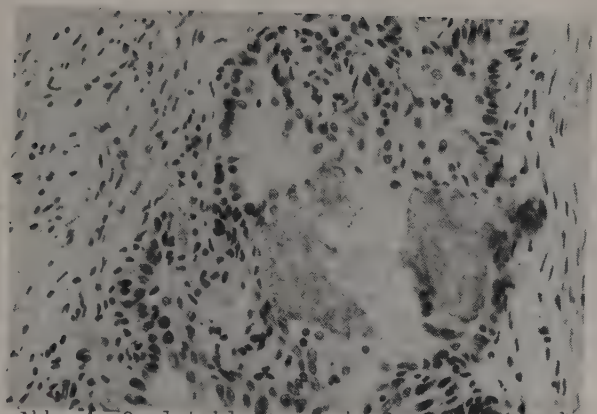

Abb. 4: Oxalatablagerung im Sammelrohr nach Äthylen-Glycol-Applikation und Ansäuerung
HE 250 x

c) Tierversuche

1. Bleisulfid Applikation

Als Versuchstiere verwendeten wir Sprague-Dawley Ratten mit einem Gewicht von 150 bis 200 g. 15 Tieren instillierten wir mit einer Knopfsonde eine Bleisulfid-Aufschwemmung an alternierenden Tagen in den Magen. Nach 30 Tagen wurde in Nembutal^{R} Narkose (60 mg/kg Körpergewicht) die Harnröhre ligiert und 2 Stunden später der Blaseninhalt abpunktiert, zentrifugiert und das Sediment mikroskopisch analysiert. Anschließend entfernten wir den Ratten beide Nieren und fertigten histologische Schnitte an.

2. Bleisulfid Applikation mit Äthylen-Glycol

15 männliche Sprague-Dawley Ratten erhielten über 30 Tage Äthylen-Glycol und Ammonium-Chlorid je 1 %ig ad libitum mit dem Trinkwasser. Zusätzlich instillierten wir den Tieren in zweitägigen Abständen eine Bleisulfidsuspension in den Magen. Die exstirpierten Nieren wurden histologisch aufgearbeitet und licht- und polarisationsoptisch ausgewertet. Es wurden Urin-pH-Messungen vorgenommen und das Harnsediment mikroskopisch untersucht. Ferner stellten wir Leeraufnahmen und Infusionsurogramme zum röntgenologischen Konkrementnachweis her. Die Urogramme wurden 4 und 8 Minuten nach Kontrastmittelinjektion angefertigt (35 Kv, 250 mAs). Um das Kontrastmittel (Urographin 76 % Schering) injizieren zu können, legten wir die Vena femoralis frei. Als Filmmaterial wurde ein 3-M x-Ray-Film Type S benutzt.

3. Zirkonsilikat Applikation

Die Versuchstiere hatten ein Gewicht von 150 - 200 g. Bei 12 Ratten applizierten wir mit der Knopfsonde über 30 Tage Zirkonsilikatkristalle in den Magen. Auch bei dieser Versuchsserie wurde den Ratten am 30. Tag die Harnröhre ligiert und der Blaseninhalt abpunktiert. Die Tiere wurden durch eine intraperitoneale Nembutal^{R} Injektion (60 mg/kg Körpergewicht) narkotisiert. Das Sediment des zentrifugierten Urins untersuchten wir mikroskopisch. Außerdem wurden

die Nieren histologisch aufgearbeitet.

4. Calciumoxalat Applikation

I. mit markierten Ca^{45}-Oxalatkristallen

20 männliche Sprague-Dawley Ratten erhielten über einen Monat Äthylen-Glycol und Ammonium-Chlorid je 1 %ig ad libitum im Trinkwasser. In zweitägigen Abständen instillierten wir den Tieren Ca^{45} radioaktiv markiertes Calciumoxalat in den Magen. Nach 30 Tagen wurden die Nieren in Nembutal Narkose (60 mg/kg Körpergewicht) exstirpiert, histologisch aufgearbeitet und die Schnitte histoautoradiographisch ausgewertet.

II. zur Lymphuntersuchung

aa) Versuchstiere

Die Sprague-Dawley Ratten hatten ein Gewicht von 340 bis 400 g. Vor Versuchsbeginn bestand eine Nahrungskarenz von mindestens 12 Stunden.

bb) Versuchsanordnung

Vor Versuchsbeginn instillierten wir den Ratten mit einer Knopfsonde 2 ml Mazola Öl in den Magen. Dadurch wird die Lymphe milchig weiß und stellt sich somit gut sichtbar dar. 45 - 60 Minuten post instillationem erfolgte die Operation in Äthernarkose:

Eröffnen des Bauches durch Medianschnitt. Hervorluxieren

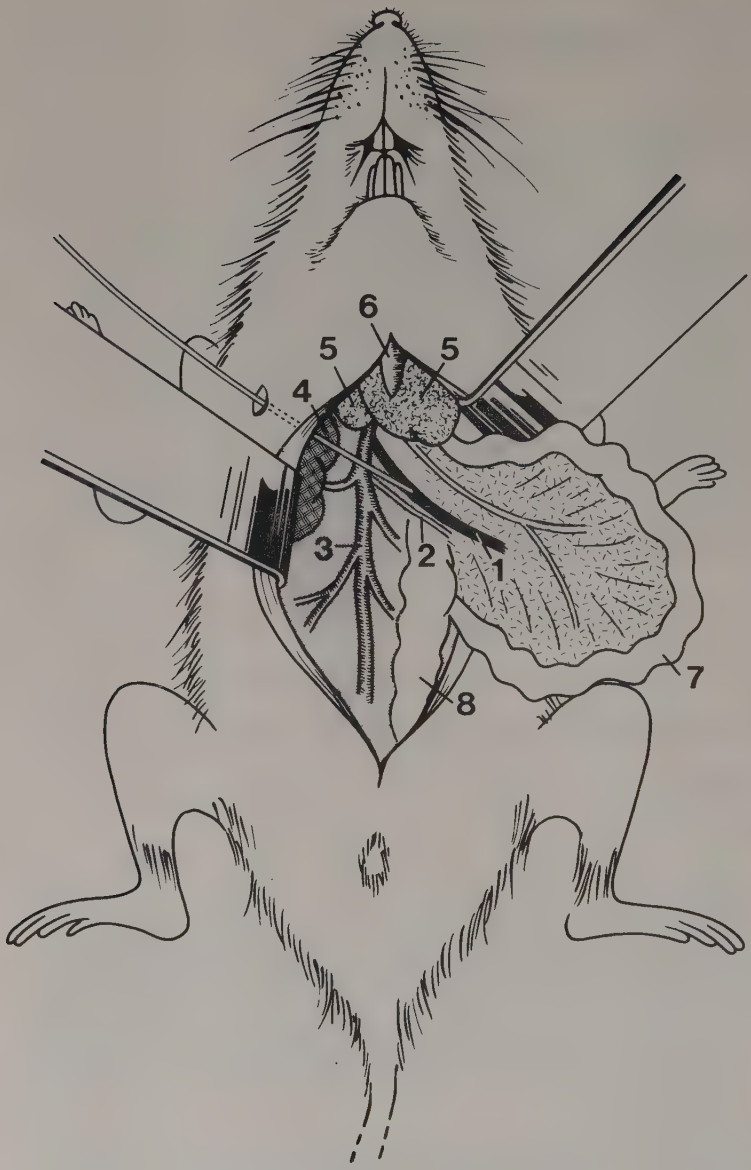

Abb. 5: Operationssitus der Ratte bei der Lymphgewinnung
1 = Lymphgefäß; 2 = Mesenterialarterie;
3 = Vena cava; 4 = Niere; 5 = Leber;
6 = Sternum; 7 = Dünndarm; 8 = Colon

des Dünndarms, so daß die Radix mesenterii des Duodenums sichtbar wird. Neben einer Mesenterialarterie der Radix mesenterii verläuft ein weißliches Lymphgefäß. Vorsichtiges Abpräparieren des perilymphatischen Bindegewebes. Eröffnung des Lymphgefäßes in der Querrichtung mit einer feinen Gefäßschere. Einführen eines angespitzten Polyvinylkatheters (lichte Weite 0,5 mm, Durchmesser 1 mm). Einbinden desselben mit einem Seidenfaden (Stärke 5 x 0) und Fixation im umgebenen Bindegewebe. Herausleiten des Katheters durch einen Knopflochschnitt unterhalb des rechten Rippenbogens. Retrograder Wundverschluß und Fixierung des Tieres in einem schmalen Käfig.
Die Lymphe wurde in ein Reagenzglas abgeleitet, in dem sich 1 ml aqua bidest.befand. Mit einer Knopfsonde instillierten wir der Ratte jetzt eine Calciumoxalatsuspension in den Magen. Über zweieinhalb Stunden wurde die Lymphe abgeleitet, zentrifugiert und gewaschen. Nach viermaligem Zentrifugieren und Waschen entnahmen wir das zurückgebliebene Sediment mit einer Platinöse aus dem Reagenzglas und untersuchten es unter dem Mikroskop. Insgesamt werteten wir 30 Versuche aus. Davon waren 10 Leerversuche, bei denen keine Instillation von Calciumoxalatkristallen erfolgte.

d) Autoradiographie

1. Begriffsbestimmung und historischer Abriß

Unter Autoradiographie versteht man den Nachweis und die

Lokalisation von radioaktiven Substanzen innerhalb eines Objektes mit Hilfe einer Photoemulsion. Man bedient sich hierbei der Eigenschaft radioaktiver Strahler (Alpha-, Beta- und Gamma-Strahler), die nach dem Prinzip der Photographie, analog dem Licht, ein entwicklungsfähiges, latentes Bild in einer Photoemulsion erzeugen können.Durch die radioaktive Strahlung erfolgt an einem oder mehreren Silberhalogenidkristallen eine im Prinzip gleiche physikalisch-chemische Veränderung, wie sie durch Quanten der Lichtstrahlung in der Photographie erzeugt wird. Es entsteht durch die radioaktive Strahlung im getroffenen Silberhalogenidkristall ein sogenanntes latentes Korn. Es stellt einen Keim von atomarem Silber dar, dessen Größe der Energie entspricht, die das beschleunigte Teilchen der radioaktiven Strahlung beim Auftreffen auf das Silberhalogenidkristall verliert (HARBERS (29)). Dieses latente Korn wird durch Behandlung mit reduzierenden Substanzen vergrössert. Man nennt diesen Vorgang Entwicklung. Danach werden die nicht getroffenen Silberhalogenidkristalle durch geeignete Lösungsmittel herausgelöst, was als Fixation bezeichnet wird. Bereits HENRY BECQUERREL (4) berichtete 1896, daß Uransalze, ohne vorangegangene Sonnenbestrahlung, photographische Platten, selbst durch zwei Lagen schwarzen Papiers hindurch, zu schwärzen vermochten. LACASSAGNE u. LATTES (92) stellten erstmalig echte mikroskopische Autoradiogramme her. Sie applizierten Tieren den Alpha-Strahler Polonium, stellten Gewebsschnitte her und brachten diese in Kontakt mit einer

photographischen Schicht. Erst mit der Entdeckung der künstlichen Radioaktivität,konnten weitere Fortschritte erzielt werden. 1940 veröffentlichen J. G. HAMILTON, M. H. SOLEY u. K. B. EICHBORN (26) Aufnahmen von radioaktivem Jod in der Schilddrüse. L. F. BELANGER u. C. P. LEBLOND (5) entwickelten 1946 die Flüssigemulsionstechnik.Dieses, auch als "coated"-Methode beschriebene Verfahren,besteht darin, die histologischen Schnitte mit einer flüssigen photographischen Emulsion zu beschichten. R. S. PELC (58, 59), BOYD (10, 11) und MAC DONALD (20) führten die Stripping-Film-Technik ein. Hierbei handelt es sich um eine Methode, bei der durch Aufsetzen einer festen photographischen Schicht auf den Schnitt eine Autoradiographie hergestellt wird.

2. Methode

Für unsere Zwecke eignete sich die von L. F. BELANGER u. C. P. LEBLOND (5) entwickelte "coated"-Methode. Hierzu verwendeten wir als flüssige Emulsion das von der Firma Agfa-Gevaert als NUC 715 auf dem Markt erhältliche Material. Es wird in Gelform geliefert, hat einen Korndurchmesser von 0,15 µm und muß im Kühlschrank bei 0,5° C gelagert werden. Die Verarbeitung und Beschichtung geschieht in der Dunkelkammer bei Rotlicht. Die Emulsion wird in einem Wasserbad von 35° - 38° C aufgeschmolzen und durch eine doppelte Mullage filtriert. Je nach Verdünnung der Emulsion erreicht

man verschiedene Schichtdicken. Wir wählten eine Verdünnung 1:2; ein Teil Emulsion, zwei Teile aqua bidest. Die Beschichtung der Präparate erfolgte nach der "dipping"-Methode: Die Präparate wurden in einer Küvette mit Emulsion getaucht und langsam wieder herausgezogen. Dann wurden die Präparate in möglichst staubfreier Luft in vertikaler oder horizontaler Lage getrocknet. Die trockenen Präparate wurden in einer lichtdichten Box sortiert und im Kühlschrank bei ca. 5° C 48 Stunden lang exponiert.
Entwickelt und fixiert wurde in der Dunkelkammer bei dunkelrotem Rotlicht. Der Entwickler wurde frisch angesetzt und wie folgt zusammengesetzt:

Wasser 40° C	800 ml
Photo-Rex 4-(Methylamino)-phenolsulfat	1,5 g
Natriumsulfit sicc.	50 g
Hydrochinon	6 g
Natriumcarbonat sicc.	32 g
Kaliumbromid	2 g
Wasser	ad 1000 ml
pH 1,4	

Die Entwicklungszeit betrug 5 Minuten. Es folgte eine kurze Zwischenwässerung, darauf ein handelsübliches Fixierbad für 15 - 20 Minuten. Zum Schluß wurden die Präparate für 10 bis 15 Minuten gewässert und dann getrocknet.

e) Histologische Aufarbeitung

1. Aufarbeitung der Nieren

Die frisch entnommenen Nieren wurden sofort in 5 %iges Formol übertragen und über Nacht fließend gewässert. Anschließend erfolgte Dehydrierung durch aufsteigende Alkoholreihe:

1. Alkohol 60 %	1 Std.
2. Alkohol 70 %	1 Std.
3. Alkohol 80 %	1 Std.
4. Alkohol 96 %	1 Std.
5. Isopropylalkohol	1 Std.
6. Methylbenzoat	1,5 - 2 Std.
7. Toluol	2 - 3 min.

Die Organe legten wir über Nacht in weiches Paraffin, dann für 2 Stunden in hartes Paraffin. Die Paraffinblöcke wurden auf Holzklötze aufgeblockt und in den Mikrotomtisch eingespannt. Die Schnitte legten wir in warmes Wasser. Sobald sie gestreckt waren, zogen wir sie auf Objektträger auf. Vor der Entparaffinierung wurden die Präparate über Nacht im Wärmeschrank getrocknet.

Entparaffinierung:

Xylol I	5 min.
Xylol II	5 min.
Isopropylalkohol	3 - 5 min.
Alkohol 96 %	3 - 5 min.
Alkohol 80 %	3 - 5 min.
Alkohol 70 %	3 - 5 min.
Alkohol 60 %	3 - 5 min.

Folgende Färbungen wurden durchgeführt:

2. Hämalaun-Eosin-Färbung (69)

Färbung mit Hämatoxilin	5 min.
HCL-Alkohol	2 mal kurz
Leitungswasser	10 min.
Eosin	2 - 3 min.

Die Entwässerung erfolgte durch aufsteigende Alkoholreihe, danach Eindecken der Präparate mit Entellan^{R}.

3. Kernechtrot-Färbung

DOMAGK (18, 19) führte diese Färbemethode ein. Die Schnitte kommen für 5 - 10 Minuten in die im Handel erhältliche Farblösung, danach erfolgte Abspülen in dest. Wasser, aufsteigender Alkoholreihe, Xylol und Balsam.

D. Ergebnisse

1. Nach Instillation der Bleisulfidkristall-Aufschwemmung in den Magen, konnten bei allen 15 Tieren im Harnsediment Bleisulfidkristalle nachgewiesen werden. Meistens waren ein, maximal zwei Kristalle pro Gesichtsfeld zu sehen. Größenmessungen mit Hilfe eines Meßokulars ergaben für die harngängigen Modellkörper einen Durchmesser von 10 - 40 µm. Im Histologischen Schnitt wurden PbS-Korpuskula sowohl in den Glomerula, als auch in allen anderen Abschnitten des Nephrons

gefunden. Bevorzugt lagen sie im Sammelrohrsystem und im Nierenbecken.

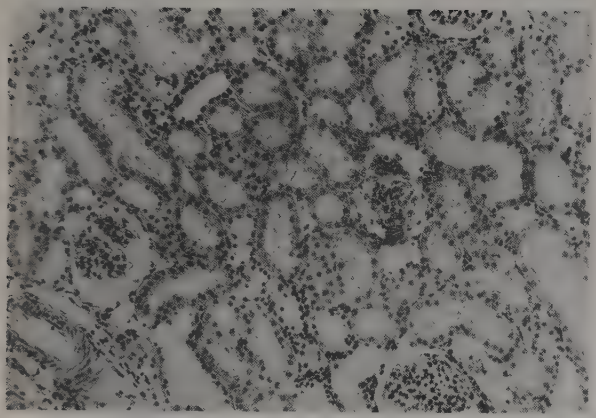

Abb. 6: Bleisulfidkristallablagerung im Glomerulum
HE 250 x

2. Von den 15 Sprague-Dawley Ratten, denen über 30 Tage Äthylen-Glycol, Ammoniumchlorid und eine Bleisulfid-Aufschwemmung verabreicht worden waren, starben während der Versuchszeit ein Drittel der Tiere durch Intoxikation. Bei den Überlebenden konnten Gewichtsreduktionen von durchschnittlich 30 - 40 g registriert werden. Die Vitalität der Tiere war deutlich vermindert.
Die Urin-pH-Messungen ergaben Werte zwischen 6,4 und 7,0, im Durchschnitt 6,7. In den Harnsedimenten fanden wir regelmäßig Calciumoxalatkristalle und Bleisulfidkonkremente. Die in Formol fixierten Nieren wurden durch Sektionsschnitt er-

öffnet. Im Nierenbecken befanden sich feinkörnige, harte Konkremente. In den histologischen Untersuchungen stellten sich im papillären Bereich mehrere Kristallisationen dar. Außerdem konnten wir im peripapillären Bereich Kristall-Konkretionen beobachten. Die Lumina der Sammelrohre waren erweitert und teilweise mit Calciumoxalat verstopft. Die PbS-Partikel lagen nur ganz selten innerhalb der Calciumoxalat-Ablagerungen. Meistens wurden sie in der Umgebung als freie Modellkörper vorgefunden.

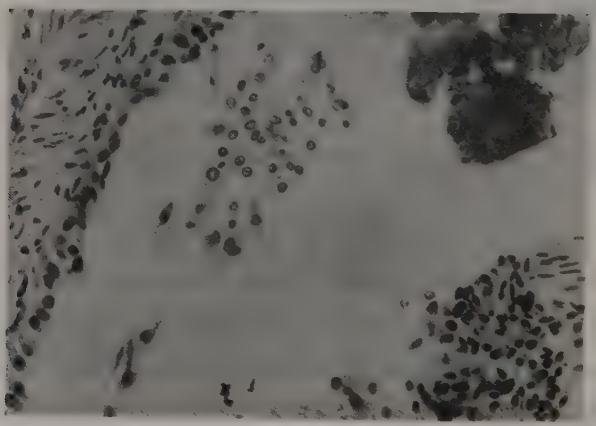

Abb. 7: Calciumoxalat-Ablagerung im Nierenbecken (re.obere Bildecke). Davon getrennt liegendes, persorbiertes Bleisulfidkristall am unteren Bildrand
HE 250 x

Die Leeraufnahmen zeigten schattengebende stecknadelkopfgroße Konkremente, die sich in die Niereneigenschatten projizierten. Auf den Infusionsurogrammen konnte man teilweise

Stauungen der Nierenbeckenkelchsysteme beobachten, die als konkrementbedingte Abflußstörung zu deuten waren.

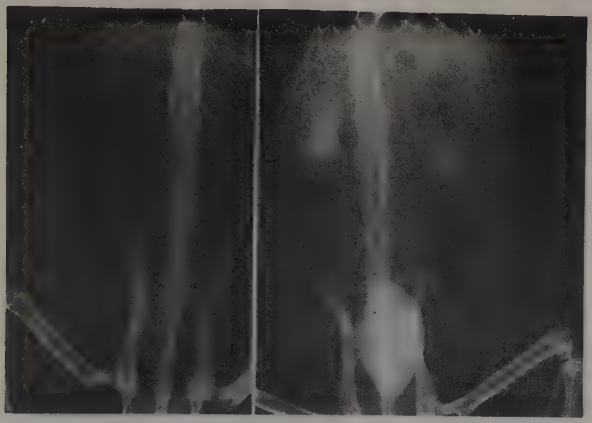

Abb. 8: Röntgenleeraufnahme (linkes Bild) mit stecknadelkopfgroßem schattengebendem Konkrement
Infusionsurogramm (rechtes Bild) mit Harnstauungsniere rechts.

3. Nach Instillation von Zirkonsilikatkristallen fanden wir bei sämtlichen 12 Tieren diese in den Nierenschnitten.

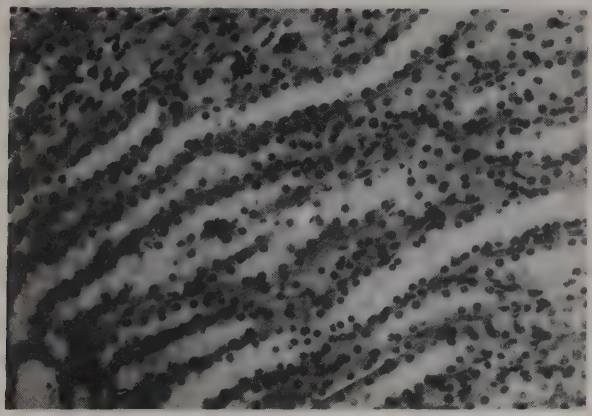

Abb. 9: Zirkonsilikatkristallablagerung im Sammelrohr
HE 250 x

Ebenso konnten bei allen 12 Tieren im Harnsediment die gefütterten Silikate polarisationsoptisch nachgewiesen werden.

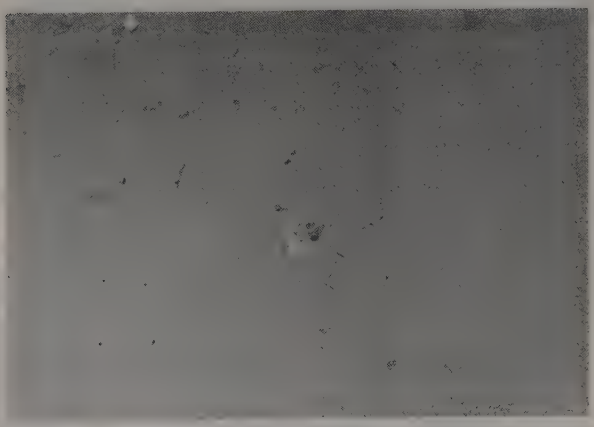

Abb. 10: Zirkonsilikatkristalle im Harnsediment (li.), in der Mitte ein Stärkekorn

Calciumoxalat Applikation mit Ca^{45}

Die Sprague-Dawley Ratten, die radioaktiv markiertes Calciumoxalat in Kombination mit Äthylen-Glycol erhielten, zeigten schon nach 10 Tagen einen reduzierten Allgemeinzustand. Bis zum 15. Tage waren noch alle 24 Tiere am Leben. Bis zum 30. Versuchstag starben bis auf 4 Ratten alle Versuchstiere. Die histologischen Untersuchungen der in Formol fixierten Nieren ergaben, daß sich in den Sammelrohren, selten in den Nierenkelchen, Calciumoxalat-Ablagerungen eingelagert hatten. Mit Hilfe der Autoradiographie

konnten wir feststellen, daß sich innerhalb dieser Konkremente markierte Calciumoxalatkristalle befanden. Diese radioaktiven Kristalle riefen eine Schwärzung auf unserem Filmmaterial hervor.

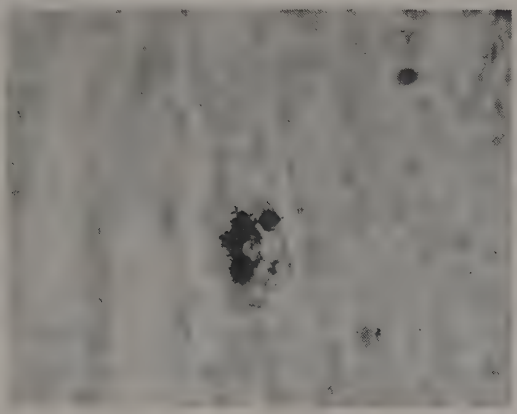

Abb. 11: Radioaktiv markiertes Calcium^{45} innerhalb einer Calciumoxalat-Ablagerung im Sammelrohr Kernechtrot 250 x

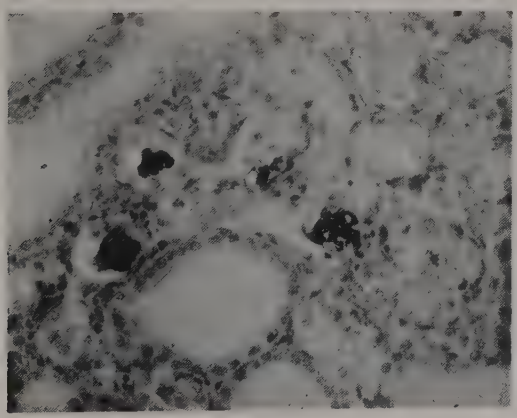

Abb. 12: Radioaktiv markiertes Calcium^{45} innerhalb einer Calciumoxalat-Ablagerung im Sammelrohr Kernechtrot 250 x

4. Calciumoxalat Applikation zum Nachweis in der Darm-Lymphe

Es wurden nur die 30 Versuche ausgewertet, bei denen die Lymphe über 2 Stunden störungsfrei abgelaufen war. Damit entfielen fast 50 % der operierten Tiere, weil bei diesen die Lymphe gerann oder der Katheter durch übermäßige Bewegung der Ratten gelockert wurde.

Im Leerversuch prüften wir, ob bei unbehandelten Tieren sich Calciumoxalatkristalle in der Lymphe befanden. In keinem der 10 Leerversuche konnten wir Calciumoxalatkristalle in "Briefkuvertform" finden.

Nach Instillation von Calciumoxalatkristallen in den Magen von 20 Ratten, konnten in 17 Fällen in der Lymphe nach zweistündiger Ableitung Weddellit-Kristalle nachgewiesen werden. Im Sediment der Lymphe befanden sich 3 bis 5 tetragonale Dipyramiden; nur in zwei Fällen fanden wir einen einzigen Briefkuvertkristall.

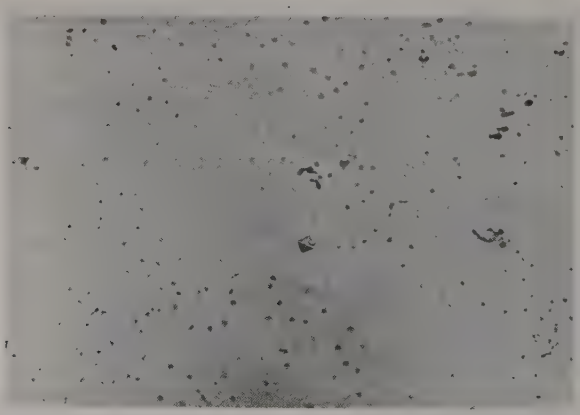

Abb. 13: Tetragonales Calciumoxalatkristall (Weddellit) in der Lymphe
300 x

E Diskussion

VOLKHEIMER et al. (79, 80, 81, 82, 85, 86, 89, 90, 92, 95 - 102) gelang der Nachweis des Persorptionsvorganges an Menschen und Tieren mit unterschiedlichen Modellkörpern. Er konnte zeigen, daß feste Partikel aus dem Darmlumen zwischen die Epithelzellen hindurch in das Stroma der Schleimhaut gelangen und mit dem Chylus abtransportiert werden.

Unsere Untersuchungen knüpften an die Arbeiten von BIRKHOLZ u. RIEDEL (7), LÖHE et al.(49) und BROSIG et al. (13) an. BIRKHOLZ u. RIEDEL (7) zeigten, daß Ratten, denen eine Aufschwemmung von Polyvinylchlorid-Granulat in den Magen instilliert wurde, diese mit dem Urin ausschieden. Bei gleichzeitiger intraperitonealer Applikation von 4-Aminobenzosulfonamidothiazol und PVC-Granulat konnten Steinkrisen ausgelöst werden. LÖHE et al. (48) sahen eine eindeutig vermehrte Calciumoxalat-Dihydratausscheidung in den Harnsedimenten nach Instillation von Calciumoxalat-Dihydratkristallen in den Magen und die oberste Dünndarmschlinge. BROSIG et al. (13) vervollständigten diese Ergebnisse und induzierten eine Pyelonephritis, indem sie den Versuchstieren Bakterien in den Magen instillierten und den Ureter ligierten. Eine hämatogene Pyelonephritis durch intestinale Persorption konnte ASSHEUER (3) 1973 erzeugen. Wir wollten mit unseren Untersuchungen klären, ob Modellkörper über den Magen-Darm-Kanal durch Persorption in die Lymphe übertreten und dann via Blutbahn in

der Niere als Kristallisationszentren von Harnsteinen wirken können.

Sämtliche von uns verabreichten Modellkörper (Bleisulfidkristalle, Zirkonsilikatkristalle, Calciumoxalatkristalle) waren nach peroraler Gabe bei den histologischen Nierenuntersuchungen nachweisbar. Bei den Vorversuchen mit Zirkonsilikatkristallen mußten differentialdiagnostisch bei der Untersuchung der Nierenparemchymschnitte Stärkekörner abgegrenzt werden. Dies war mit Hilfe des Polarisationsmikroskops möglich. Den Ratten, denen wir PbS-Kristalle in den Magen instillierten, zeigten keine Bleivergiftungserscheinungen. Erst bei zusätzlicher Applikation von Äthylen-Glycol waren Intoxikationen zu beobachten, so daß ein Drittel der Tiere während der Versuchsdauer starb. Bei den verabreichten Bleisulfidkristallen zeigte sich jedoch, daß bei gleichzeitiger Auslösung von Steinkrisen (Calciumoxalat) durch Gaben von Äthylen-Glycol und Ansäuerung, diese nicht innerhalb der Oxalatablagerungen zu finden waren. Persorbierte Bleisulfidkristalle wirken somit nicht als Kristallisationskerne bei der Steinentstehung.

Es ist anzunehmen, daß zum Kristallisationsprozeß eine spezifische Oberflächenstruktur des Nucleus erforderlich ist, die durch Bleisulfid nicht erfüllt wird.

Aus diesem Grunde wurden in einer weiteren Versuchsreihe, anstelle des Bleisulfids,radioaktiv markierte Calciumoxalatkristalle verwandt. Es zeigte sich, daß in den durch Äthylen-

Glycol ausgelösten Kristallisationen radioaktives Calcium histoautoradiographisch nachgewiesen werden konnte. Calciumoxalatkristalle scheinen sich mit der induzierten Oxalatablagerung besser assoziieren zu können und sind somit als Nucleus für die Steingenese zu postulieren.

Hinsichtlich des Ursprungs wurde diskutiert, ob es sich entweder um persorbierte Calciumoxalatkristalle oder um Calciumionen handelt, die durch Dissoziation im Magen aus Calciumoxalat frei werden und sich in die Nierenkonkremente einlagern.

Um diese Frage zu beantworten, untersuchten wir mit eindeutig identifizierbaren Calciumoxalat-Dihydratkristallen (Weddellit) den Persorptionsvorgang. Nach einmaliger Instillation von Calciumoxalatkristallen in den Magen, konnten wir diese in der Mesenteriallymphe wiederfinden. Bei Applikation von 0,8 - 1 g Calciumoxalatkristallen erschienen 4 - 5 Kristalle in 1 ccm Lymphe. Verglichen mit dieser geringen Ausbeute, fanden andere Autoren nach Verfütterung von Stärke, Hefe und Polyvinylchlorid-Pulver (VOLKHEIMER et al. (79, 80, 83, 84, 90, 92, 93, 94, 100, 103, 104, 106)) erheblich größere Mengen in den einzelnen Kompartimenten. Als mögliche Ursache wird die verlängerte Verweildauer im Gewebe durch die Form der Kristalle diskutiert (SANFT (71)).

Bereits unter physiologischen Bedingungen befinden sich Calciumoxalatkristalle im Darm, die durch Nahrungsmittel

- wie Spinat, Spargel, Rhabarbar, Milch und Milchprodukte - aufgenommen werden.
Nach unseren Untersuchungen kann eine Harnsteingenese durch persorbierte Calciumoxalatkristalle als Kristallisationskerne angenommen werden.
Die von uns durchgeführten Versuche hatten lediglich qualitativen Charakter, es sollten keine quantitativen Aussagen gemacht werden, und deshalb verwendeten wir nur Aufschwemmungen unseres Ausgangsmaterials.
Es wäre interessant, eine gezielte quantitative Untersuchung durchzuführen. Ferner müßte die Frage geklärt werden, wie unsere Modellkörper in die Niere gelangen, ob sie den Weg über den Glomerulus oder die peritubuläre Lymphe nehmen.

F Zusammenfassung

Zur formalen Harnsteingenese werden zwei Theorien diskutiert, die Kristallisationstheorie und die Matrixtheorie. Beiden gemeinsam ist das Auftreten eines Nucleus, an dem sich die Steinbildung durch Ausfallen von Harnsalzen vollzieht.Die Fragestellung war, ob persorbierte Teilchen in der Niere als Kristallisationskerne eine Steinbildung auslösen können. Nach den heutigen Vorstellungen, beruht der Persorptionsvorgang auf einem Durchtritt fester Partikel aus dem Darmlumen durch das Epithel in das Stroma der Darmschleimhaut während des normalen Verdauungsprozesses (VOLKHEIMER (100, 103, 104, 105, 106, 107)). In Vorversuchen wurde untersucht,ob kristalline Modellkörper über den

Persorptionsvorgang in der Niere abgelagert werden. Hierzu verwendeten wir Bleisulfid und Zirkonsilikat, beides Modellkörper, die in einer Größe von 10 und 100 µm hergestellt wurden. Sie sind leicht zu identifizieren und werden im Stoffwechsel nicht verändert. Beide Kristalle konnten in den angefertigten Nierenschnitten wiedergefunden werden, bevorzugt in dem Sammelrohrsystem und im Nierenbecken, aber auch in allen anderen Abschnitten des Nephrons. Zusätzlich befanden sich bei den durchgeführten Urinuntersuchungen jeweils die applizierten Kristalle in den Harnsedimenten. In weiteren Experimenten sollte geklärt werden, ob die abgelagerten Kristalle als Kristallisationskerne dienen können. Hierzu griffen wir auf ein von LYON, BORDEN u. VERMEULEN (50) beschriebenes Verfahren zurück, Calciumoxalat-Steinbildung unter Applikation von Äthylen-Glycol und zusätzlicher Ansäuerung an Ratten zu induzieren. Zunächst wurde geprüft, ob Bleisulfidkristalle (PbS) als Kristallisationskerne für die Calciumoxalat-Steinbildung in Frage kommen, wenn gleichzeitig Äthylen-Glycol und Ammoniumchlorid als ansäuerndes Agens gegeben werden. Die Ergebnisse zeigten aber, daß PbS-Kristalle nicht den Calciumoxalat-Ablagerungen der Niere zugeordnet waren, und somit als Kristallisationskerne für die Steinentstehung nicht in Betracht kommen. Deshalb wurden,anstelle der PbS-Kristalle,Calciumoxalatkristalle als Kristallisationskerne bei der Steinentstehung angewandt. Zur leichteren Identifizierung arbeiteten wir mit radioaktiv markiertem Ca^{45}, das in die Kristalle eingelagert

wurde. Die Versuchstiere erhielten gleichzeitig 1 %iges Äthylen-Glycol und 1 %iges Ammoniumchlorid ad libitum im Trinkwasser. Die nach 30 Tagen angefertigten Nierenschnitte wurden histoautoradiographisch nach der von L. F. BELANGER u. C. P. LEBLOND (5) entwickelten "coated"-Methode untersucht. Es zeigte sich, daß in den durch Äthylen-Glycol ausgelösten Kristallisationen radioaktives Calcium autoradiographisch nachweisbar war. Hinsichtlich des Ursprungs, kommt sowohl Persorption als auch Absorption in Betracht. Durch eine bei Ratten angelegte Lymphfistel sollte bewiesen werden, daß Ca^{45}-Oxalatkristalle hauptsächlich persorbiert worden waren. Nach einer einmaligen oralen Applikation tetragonaler kristallisierender Calciumoxalatkristalle, waren diese mikroskopisch in der abgeleiteten Lymphe nachzuweisen.

Somit konnte durch die tierexperimentellen Versuche gezeigt werden, daß bei der formalen Steingenese auch die Persorption in Betracht gezogen werden muß.

G Literaturverzeichnis

1. ASCHOFF, L.: Histologische Untersuchungen über die Harnsäureablagerungen.
Verh. Dtsch. Path. Ges. Meran 1900

2. ASCHOFF, L.: Ueber Konkrementbildungen.
Verh. 5. internat. Path. Kongr. Turin 1912, S. 327

3. ASSHEUER, B.: Experimentelle Pyelonephritis durch intestinale Persorption.
Inaugural-Dissertation, Berlin 1973

4. BECQUEREL, H.: Sur les radiations émises par phosphorescence
Sur les radiations invisibles émises par les corps phosphorescents
Cr. 122 (1896) 420, 501

5. BELANGER, L. F. u. LEBLOND, C. P.: A method of locating radioactiv elements in tissues by covering histological sections with a photographic emulsion.
Endocrinology 39 (1946) 8

6. BERMAN, L. B., SCHREINER, G.E., FEYS, J.: The nephrotoxic lesion of ethylene glycol.
Ann. Intern. Med. 46 (1957) 611

7. BIRKHOLZ, W., RIEDEL, B.: Experimentelle Steinbildung durch Persorption corpusculärer Elemente
Urolog. A 9 (1970) 230

8. BOSHAMMER, K.: Morphologie und Genese der Harnsteine. In "Handbuch der Urologie". Herausgegeben von C. E. Alken, V. W. Dix, H. M. Weyrauch und E. Wildbolz. Springer Verlag, Berlin, Göttingen-Heidelberg (1961)

9. BOYCE, W. H. and KING, J. S.: Crystal-matrix-interrelations in calculi
J. Urol. (Baltimore) 81 (1959) 354

10. BOYD, G. A. and WILLIAMS, A. I.: Stripping film technics for histological autoradiographie
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 69 (1948) 225

11. BOYD, G. A.: Autoradiography in biology and medicine
Academic Press Inc. New York (1955)

12. BROSIG,W.: Ätiologie der Nierensteine
Vortrag gehalten beim Amerikanisch-Deutschen-Chirurgen-Kongreß des American College of surgeons in Verbindung mit der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, München (26. - 29. Juli 1968)

13. BROSIG, W., LÖHE, E., RIEDEL, B.: Experimental stone formation and experimental pyelonephritis, caused by persorption.
Investigative Urology 10 (1972) 151

14. BUTT, A. J., HAUSER, E. A.: Urinary colloids in prevention of kidney-stone formation.
New Engl. J. Med. 246 (1952) 604

15. BUTT, A. J., HAUSER, E. A.: Importance of protective urinary colloids in the prevention and treatment of kidney-stones.
Science 115 (1952) 308

16. CONNEL, R., WHITING, F., FORMAN, S. A.: Silica Urolithiasis in beef cattle
1. Observation on its occurrence
Canadian Journal of Comprarative Medicine Vol XXIII, No. 2, S. 41 (1959)

17. Mc CULLAGH, K. G., EHRHART, L. A.: Silica urolithiasis in laboratory dogs fed semisynthetic diets.
J.A.V.M.A., Vol. 164, No. 7 (1974)S.712

18. DOMAGK, G.: Neuerungen auf dem Gebiet der histologischen Technik.
Medizin und Chemie 1 (1933) 126

19. DOMAGK, G.: Ein Beitrag zu den Kernechtfärbungen und der Haltbarkeitsmachung empfindlicher Färbungen.
Zbl. Pathol. 55 (1932) 248

20. MAC DONALD, A. M., COBB, J. and SOLOMON, A. K.: Radioautograph technique with C^{14}.
Science, N.Y. 107 (1948) 550

21. DONDERS, C. F.: Untersuchungen über den Übergang fester Moleküle in das Gefäßsystem.
Zschr. rat. Med. (neue Folge) 1 (1851) 415

22. EBERHARD, R. F.: Untersuchungen über den Uebergang fester Moleküle in das Blut.
I. Versuche über den Uebergang fester Stoffe von Darm und Haut in die Säftemasse des Körpers.
Zschr. rat. Med. (neue Folge) 1 (1851) 406

23. FREY, A.: Calciumoxalat-Monohydrat und -Trihydrat in der Pflanze.
Vierteljahresschrift d. Naturf. Ges. Zürich, Jahrg. 70 (1925)

24. FRIEDMAN, E. A., GREENBERG, J. B., MERRILL, J. P., DAMMIN, G. J.: Consequences of ethylene glycol poisoning.
Amer. J. Med., 32 (1962) 891

25. GERSHOFF, S. N., ANDRUS, S. B.: Effect of vitamin B_6 and magnesium on renal deposition of calcium ocalate, induced by ethylene glycol administration. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 109 (1962) 99

26. HAMILTON, J. G., SOLEY, M. H. and EICHORN, K. E.: Deposition of radioactive iodine in human thyroid tissue.
Univ. of California (Berkeley) Publs., Pharmacology 1 (1940) 339

27. HAMMARSTEN, G.: On calciumoxalate stones.
In Etiologic Factors in Renal Lithiasis.
A. J. Butt (Editor). Charles C. Thomas, Springfield, Illinois (1956)

28. HANZLIK, P. J., LAWRENCE, W. S., LAQUEUR, G. L.: Comparative chronic toxicity of diethylene glycol monoethyl ether (carbitol) and some related glycols.
J. Industr. Hyg. Toxic 29 (1947) 233

29. HARBERS, E.: Autoradiographie als histochemisches Untersuchungsverfahren.
Handbuch der Histochemie Bd. I/1, 412 Grundlagen
G. Fischer Verlag Stuttgart (1958)

30. HELLER, F.: Die Harnkonkretionen.
Wien (1860)

31. HERBST, G.: Das Lymphgefäßsystem und seine Verrichtungen.
Göttingen (1844) 333

32. HERMANN, J. R. GOLDBERG, A. S.: New Type of urinary calculus caused by antacid therapy.
Journal Association of the American Medical 174 (1960) 1206

33. HIRSCH, R.: Über das Vorkommen von Stärkekörnern im Blut und im Urin.
Z. exp. Path. Ther. 3 (1906) 390

34. HIRSCH, R.: Über das Übergehen corpusculärer Elemente in den Harn.
Bln. Klin. Wschr. 45 (1908) 331

35. JOEKES, A. M., ROSE, G. A., SUTOR, J.: Multiple renal silica calculi.
British Medical Journal 1 (1973) 146

36. KLEINSCHMIDT, O.: Die Harnsteine.
Berlin: Springer (1911)

37. KOCH, Fr. W.: Experimentelle Untersuchungen über die Nierensteinbildung.
Sonderh. Z. Urol. I (1950) 110

38. KOCH, Fr. W.: Weitere Untersuchungsergebnisse zur Frage der Nierensteinbildung.
Med. Welt 20 (1951) 876

39. KOCH, Fr. W.: Die Genese der Steinbildung in den Harnwegen nach den neuesten Forschungsergebnissen.
Wildunger Hefte H. 2 (1953)

40. KOCH, Fr. W.: Kritik der eigenen Untersuchungsergebnisse über die formale Genese der Harnsteine.
Urol. int. (Basel) 7 (1958) 91

41. KOHLER, R.: Das chemische Gleichgewicht im menschlichen Harn.
Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. 17 (1919) 473

42. LACASSAGNE, A., et LATTES, J.: Méthode auto-histo-radiographique pour la détection dans les organes du polonium injecté.
Cr. 178 (1924) 488

43. LAGERGREEN, C.: Development of silica calculi after administration of magnesium trisilicate. Journal of Urology 87 (1962) 994

44. LEVY, R.: I. Renal failure secondary to ethylene glycol intoxication. J.A.M.A. 173 (1960) 114

45. LICHTWITZ, L.: Über die Bedeutung der Kolloide für die Konkrementbildung und Verkalkung. Dtsch. med. Wschr. (1910)

46. LICHTWITZ, L.: Über die Bildung von Niederschlägen und Konkrementen im Harn und in den Harnwegen. In Kraus-Brugsch, Spezielle Pathologie und Therapie innerer Krankheiten, Bd. II, S. 239 Berlin: Urban & Schwarzenberg (1919)

47. LICHTWITZ, L.: Prinzipien der Konkrementbildung. In A. Bethe, Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie. Berlin: Springer (1929)

48. LICHTWITZ, L.: Formation of concretions. In J. Alexanders's Colloid Chemistry, vol. V, p. 1063. New York: Reinhold (1944)

49. LÖHE, E., BROSIG, W., RIEDEL, B.: Zur Frage der Persorption von Calcium-Oxalat-Kristallen im Magen-Darm-Trakt und ihrer Ausscheidung im Urin.
Verhandlgber. Dtsch. Ges. f. Urologie 23. Tagung Baden-Baden (1971) 391

50. LYON, E. S., BORDEN,T. A., VERMEULEN, C. W.: Experimental oxalate lithiasis produced with Ethylene Glycol.
Investg. Urol. 4 (1966) 143

51. MARFELS, F., MOLESCHOTT, J.: Der Uebergang kleiner fester Theilchen aus dem Darmkanal in den Milchsaft und das Blut.
Wien. med. Wschr. 4 (1854) 817

52. MECHEL v. HEMSBACH, H.: Mikrogeologie.
Berlin: Reimers (1856)

53. MILLES, G.: Ethylene glycol poisoning.
Arch. Path. 41 (1946) 631

54. MORITZ, A. R.: Über den Einschluß von organischer Substanz in den kristallisierten Sedimenten des Harns.
Verh. 14. Kongr. inn. Med. (1896)

55. NAKANO, H.: Beiträge zur Kenntnis der in den Harnsteinen enthaltenen Substanzen.
J. Biochem. (Tokyo) 2 (1922/23) 437

56. NAKANO, H.: Atlas der Harnsteine, zugleich eine kristallographisch-chemische Studie über deren Entstehung.
Wien (1925); s. a. Dtsch. med. Wschr. 51 796

57. OESTERLEN, F.: Ueber den Eintritt von Kohle und anderen unlöslichen Stoffen vom Darmcanal aus in die Blutmasse.
Zschr. rat. Med. 5 (1846) 434

58. PELC, S. R.: Autoradiograph Technique.
Nature 160 (1947) 749

59. PELC, S. R.: The stripping film technique of autoradiography.
Int. J. appl. Radiat. Isotopes, I No. 3, Nov. 1956, pp. 172-177

60. PFEIFFER, E.: Ätiologie und Therapie der harnsauren Steine.
Verh. 5. Kongr. inn. Med. (1886)

61. PHILIPSBORN, H. v.: Über Calciumoxalat.
Fortschr. Mineral. 29/30 (1950/51) 393

62. PHILIPSBORN, H. v.: Neues über Calciumoxalat.
Naturwissensch. Rundschau (1952) S. 400

63. PHILIPSBORN, H. v.: Zur mineralogischen Untersuchung der Harnsteine.
Fortsch. Mineral. 31 (1952) 62

64. PHILIPSBORN, H. v.: Über Calciumoxalat im Harnsediment und in Harnsteinen.
Ärztl. Forsch. 7 (1953) 391

65. PHILIPSBORN, H. v.: Calciumoxalat - 275 Jahre mikroskopischer Forschung.
Sudhoffs Arch. Gesch. Med. 38 (1954) 336

66. PHILIPSBORN, H. v.: Biokristallographie.
Bull. Soc. franc. Minéral. Crist. 78 (1955) 267

67. PHILIPSBORN, H. v.: Zur Harnsteinbildung aus der Sicht des Mineralogen.
Urol. int. (Basel) 7 (1958) 28

68. PONS, C.-A., CUSTER, R. P.: Acute ethylene glycol poisoning.
Amer. J. Med. Sei. 211 (1946) 544

69. PRIEN, E. L., FRONDEL, Cl.: Studies in Urolithiasis I. The Composition of Urinary Calculi.
The Journ. of Urol. (USA) 57 (1947) 949

70. ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik.
R. Oldenbourg Verlag, München-Wien (1968)

71. SANFT, H. J.: Die Persorption von Kristallen.
Dtsch. Z. Verdau.- u. Stoffwechselkr. 35 (1975) 235

72. SENGBUSCH, R., TIMMERMANN, A.: Die Bildung von Calciumoxalat - Mikrosteinen im menschlichen Harn und ihre Veränderung durch diätetische und medikamentöse Maßnahmen.
Urol. Int. 5 (1957) 218

73. SNAPPER, J. and GECHMANN, E.: Calcium and phosphorus metabolism and its relationship of urolithiasis.
S. 53 in A. Butt, Etiol. factors in renal lithiasis.
Springfield (1956)

74. SOUCHAY u. LENSSEN: Ueber die Oxalate der Alkalien und alkalischen Erden.
Annalen der Chemie 100, Seite 311 (1856)

75. TANRET, P., THOMAS, J., THOMAS, E., COTTENTOT, F.:
Influence du sexe sur les formations de dépôts d'oxalate de calcium dans les reins chez le rat intoxiqué par l'éthylene-glycol.
C.R.Soc.Biol. 156 (1962) 1285

76. VAILLE, C., DEBRAY, C., MARTIN, E., SOUCHARD, M., ROZE, C.: Sur la lithiase rénale expérimentale à l'éthyléne-glycol chez le rat mâle et femelle.
Ann. Pharm. Franc. 21 (1963) 111

77. VERMEULEN, C. W., RAGINS, H. D., GROVE, W. J. GOETZ, R.:
Experimental urolithiasis III: prevention and dissolution of calculi by alteration of urinary pH.
J. Urol. 66 (1951) 1

78. VERZAR, F.: Aufsaugung und Ausscheidung von Stärkekörnern.
Biochm. Z. 34 (1911) 86

79. VOLKHEIMER, G.: Nachweis von Stärke im Organismus und im Harn nach oraler Stärkeeinnahme.
Dtsch. Gesundh.-Wes. 15 (1960 1298

80. VOLKHEIMER, G.: Zur Resorption corpusculärer Elemente durch die Darmschleimhaut und deren Ausscheidung in den Harn.
Dtsch. Gesundh.-Wes. 16 (1961) 1610

81. VOLKHEIMER, G.: Zur Resorption corpusculärer Elemente durch die Darmschleimhaut und deren Ausscheidung in den Harn.
Dtsch. Gesundh.-Wes. 16 (1961) 2129

82. VOLKHEIMER, G., HERMANN, H., AL ABESIE, F., JOHN, H.: Resorptionsphysiologische Betrachtungen zur Nahrungsmittelallergie.
Dtsch. Gesundh.-Wes. 16 (1961) 2129

83. VOLKHEIMER, G., JOHN, H., AL ABESIE, F., WACHTEL, S.: Zur Resorption korpuskulärer Elemente durch die Darmschleimhaut und deren Ausscheidung im Harn.
Dtsch. Ges.-Wes. 16 (1961) 1651

84. VOLKHEIMER, G., SZARVAS, F., AL ABESIE, F., JOHN, H., WACHTEL, S.: Aufsaugung von Polyvinylchlorid-Pulver durch die Dünndarmschleimhaut und deren Abtransport durch die Chylusgefäße.
Dtsch. Ges.-Wes. 16 (1961) 1727

85. VOLKHEIMER, G., WOLF, W., JOHN, H.: Über die Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für oral verabreichte Muskelfasern.
Dtsch. Gesundh.-Wes. 17 (1962) 413

86. VOLKHEIMER, G., ULBRICHT, W., AL ABESIE, F., JOHN, H., WACHTEL, S.: Beobachtungen zur Resorption corpusculärer Elemente aus dem Darm und deren Vorkommen im Bereich des ZNS und im Liquor cerebrospinalis. Psychiat. Neurol. med. Psychol. 14 (1962) 129

87. VOLKHEIMER,G., JOHN, H.: Beobachtungen über "Verunreinigungen" des Harnsediments. Dtsch. Ges.-Wes. 17 (1962) 620

88. VOLKHEIMER, G., JOHN, H.: Diaplazentarer Übertritt großkorpuskulärer Elemente. Zbl. Gynäk. 84 (1962) 1529

89. VOLKHEIMER, G.: Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für großcorpusculäre Elemente. II. Weltkongreß f. Gastroenterologie, München (1962); II (1963) 747

90. VOLKHEIMER, G.: Über parazelluläre, chylöse Resorptionsmechanismen. Z. Ges. inn. Med. 18 (1963) 949

91. VOLKHEIMER, G., JOHN, H.: Über die Ausscheidung von Korpuskeln in die laktierende Mamma und in die Milch. Zbl. Gynäk. 85 (1963) 561

92. VOLKHEIMER, G.: Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für großcorpusculäre Elemente (HERBST-Effekt).
Z. Gastroenterologie 2 (1964) 57

93. VOLKHEIMER, G.: HERMANN, H., HERMANNS, E., JOHN, H., AL ABESIE, F.: Über Resorption und Ausscheidung von intakten Hefezellen.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 192 (1964) 121

94. VOLKHEIMER, G.: Der Uebergang kleiner fester Theilchen aus dem Darmcanal in den Milchsaft und das Blut.
Wien med. Wschr. 114 (1964) 915

95. VOLKHEIMER, G., JOHN, H., WENDLANDT, H., OLEJNICZAK, H., WERNER, G., SCHMIDT, W., SEEBO, M., HACKBARTH, H.: Quantitative Untersuchungen zum HERBST-Effekt.
Dtsch. Gesundh.-Wes. 20 (1965) 1685

96. VOLKHEIMER, G., JOHN, H., WIESNER, B., WENDLANDT,H., REITZIG, P., DOLKEIT, K., AURICH, L., WACHTEL, S., REICHENBERG, C., PARSI, R. A., MURDTER, G.: Über bemerkenswerte Eliminationsfähigkeiten der glomerulären Gefäße.
Weitere Untersuchungen zum HIRSCH-Effekt.
Dtsch. Gesundh.-Wes. 20 (1965) 21

97. VOLKHEIMER, G., HERMANN, H., HERMANNS, E., JOHN, H., AL ABESIE, F., WACHTEL, S.: Über Resorption und Ausscheidung von intakten Hefezellen.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 192 (1967) 121

98. VOLKHEIMER, G.: Zur Pathophysiologie der Dünndarm-Resorption - das Phänomen der Persorption.
Aktuelle Kongreß-Berichte 2, 17. Ärztl. Fortbildungskursus, Bad Kissingen(1967) S. 61

99. VOLKHEIMER, G.: Portaler und chylöser Abtransport persorbierter Nahrungspartikel.
Aktuelle Gastroenterologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1968) S. 137 (Verhandlungen der 24. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten in Hamburg 1967)

100. VOLKHEIMER, G.: Das Phänomen der Persorption von Stärkekörnern.
Die Stärke 20 (1963) 117

101. VOLKHEIMER, G., SCHULZ, F., HOFFMANN, I., PIESER, J., RACK, O., REICHELT, G., ROTHENBAECHER, W., SCHMELLICH, SCHURIG, B., TEICHER, G., WEISS, B.: The effect of drugs on the rate of persorption.
Pharmakology 1 (1968)8

102. VOLKHEIMER, G., WENDLANDT, H., WAGEMANN, W., RWITZIG, P., SCHNEIDER, D., BÖHM, C., BÖHM, M., ERAS, B., GRÖNING, H., HAUPTMANN, G., HILLER, R., LORENZ, H., MENDELKOW, A., STRAUCH, S.: Beobachtungen zum Persorptions-Mechanismus.
Path. et Microbiol. 31 (1968) 51

103. VOLKHEIMER, G., SCHULZ, F. H.: The phenomenon of persorption.
Digestion 1 (1968) 213

104. VOLKHEIMER, G., SCHULZ, F. H., AURICH, J., STRAUCH, S., BEUTHIN, K., WENDLANDT, W.: Persorption of particles.
Digestion 1 (1968) 78

105. VOLKHEIMER, G.: Zerebrale Gefäß-Verschlüsse durch Nahrungspartikel (silting effect).
Z. Gerontologie 6 (1968) 360

106. VOLKHEIMER, G., SCHULZ, F. H., LEHMANN, H., AURICH, J., HÜBNER, R., HÜBNER, M., HALLMAYER, A., MÜNCH, H., OPPERMANN, H., STRAUCH, S.: Primary portal transport of persorbed starch granules from the intestinal wall.
Path. exp. (Basel) 18 (1968) 103

Für die Überlassung des Themas bedanke ich mich bei
Herrn Professor Dr. med. W. Brosig.

Herrn Dr. med. A. Rost danke ich für die Einarbeitung
in die methodischen Grundlagen und die Unterstützung
bei der Bearbeitung.

Lebenslauf

Name	: Peter Dohrmann
Geburtsdatum	: 2. Oktober 1950
Geburtsort	: Berlin
Staatsangehörigkeit	: deutsch
Familienstand	: ledig
Vater	: Prof. Dr. med. Rolf Dohrmann Chirurg
Mutter	: Dr. med. Ingeborg-Charlotte Dohrmann geb. Zimmermann Fachärztin f. Laboratoriumsdiagnostik
Schulbildung	: 1957 - 1963 Grundschule 1963 - 1970 Gymnasium: Abitur
Medizinstudium	: SS 1970 Zulassung Berlin WS 1970/1971 Vorphysikum SS 1972 Physikum WS 1972/1973 und SS 1973 Studium an der Technischen Universität München Klinikum rechts der Isar WS 1973/1974 Fortsetzung des Studiums in Berlin WS 1975/1976 Medizinisches Staatsexamen
Medizinalassistentenzeit:	Seit Mai 1976 an der Urologischen Klinik und Poliklinik der Freien Universität Berlin, Klinikum Steglitz, Prof. Dr. med. Brosig

F. Höpfner - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198